

Der Nachweis des männlichen Geschlechts an den Zellkernen länger gelagerter Blutproben und Blutspuren

von

Axel Krüger

aus

Meerane

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. Dr. E. Weinig

Der Nachweis des männlichen Geschlechts an den Zellkernen länger gelagerter Blutproben und Blutspuren

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg



vorgelegt

von

Axel Krüger

aus

Meerane

Gedruckt mit Erlaubnis der Hohen Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. G. Koch

Referent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 6. 1972

MEINEN LIEBEN ELTERN

GEWIDMET

An dieser Stelle danke ich Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas und für die bei der Durchführung der Arbeit jederzeit gewährte freundliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. G. Schaidt für die zahlreichen Anregungen und Hinweise bei der Ausarbeitung der Dissertation.

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
A Einleitung und Problemstellung	7
B Vorversuche zur Materialgewinnung, Aufarbeitung und Auswertung	9
C Endgültige Untersuchungsmethoden	13
1. Ansätze	13
2. Aufbereitung und Fluorochromierung	14
3. Mikroskopie	14
4. Auswertung	15
D Untersuchungen	16
1. Bei Zimmertemperatur gelagerte Blutproben	16
2. Im Kühlschrank gelagerte Blutproben	16
3. Eingetrocknete Blutflecken auf Leinengewebe	17
4. Eingetrocknete Blutspuren auf Glas	17
E Versuchsergebnisse	17
F Diskussion	19
G Zusammenfassung	21
H Tabelle	22
I Literaturverzeichnis	23



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548617_0063

A Einleitung und Problemstellung

Die Geschlechtsdiagnose an biologischem Spurenmaterial ist in der forensischen Medizin vor allem im Rahmen der Identifizierung von Opfern und Tätern von Bedeutung. So können Leichenteile, aus deren Form allein keine Geschlechtsbestimmung möglich ist, ebenso untersucht werden, wie an Tatorten aufgefundene ausgerissene Haare, Blutspuren, Hautteilchen an Werkzeugen und Zigarettenstummeln.

Seit den Untersuchungen von BARR (1949) konnte das weibliche Geschlecht durch den Nachweis des Geschlechtschromatins (Sexchromatin) an menschlichen Zellen bestimmt werden, das männliche nur im Ausschlußverfahren bei negativem Befund für weibliche Zellen. Durch die Untersuchungen von CASPERSSON und Mitarbeitern (1968, 1970) kann nunmehr der positive Geschlechtssnachweis an Zellmaterial, das von männlichen Personen stammt, durchgeführt werden.

CASPERSSON hat in seinen Untersuchungen gezeigt, daß mit fluoreszierenden Acridinderivaten pflanzliche, tierische und menschliche Chromosomen in ihren einzelnen Abschnitten unterschiedlich angefärbt werden und dadurch im UV-Licht ein Bandenspektrum erkennen lassen (1968, 1969, 1970). Der distale Anteil des Langarmes des menschlichen Y-Chromosoms zeigt dabei eine besonders intensive Fluoreszenz. Daher ist das Y-Chromosom in einer Metaphaseplatte von allen anderen Chromosomen am leichtesten zu erkennen (ZECH). PEARSON und Mitarbeitern gelang es 1970, das Y-Chromosom auch in Interphasekernen eindeutig zu identifizieren, wo es als stark leuchtendes, von ihm als F-body und von anderen Autoren als Y-body bezeichnetes Körperchen von 0,25 - 0,5 μ Durchmesser imponiert (ZECH, GEORGE). Als Untersuchungsmaterial

dienten Wangenschleimhautabstriche, Fibroblasten- und Lymphozyten-Kulturen. Die Zellen wurden mit Quinacrine dihydrochloride, identisch mit Atebrin[®] Bayer, gefärbt.

Inzwischen wurde das Y-Chromosom u.a. in Zellen der Haarwurzelscheide, Zellen des peripheren Blutkreislaufes und des Knochenmarks, in Spermien und Amnionzellen nachgewiesen (MENDE, SCHWINGER, RADAM, BARLOW, MÜLLER, POLANI). Der Nachweis des Fluoreszenzkörperchens an Zellen des peripheren Blutkreislaufes läßt sich leicht und sicher an Blutaussstrichen durchführen.

Die Angaben über die Häufigkeit des Auftretens von F-bodies schwanken zwischen 15 - 98,4 %, wobei bei Blutzellen der Prozentsatz gegenüber den anderen Zellen am höchsten ist (MENDE, MÜLLER, MAJEWSKI, BARLOW, POLANI). Bei weiblichen Individuen finden sich nur in 0 - 5 % der Fälle Fluoreszenzkörperchen (MÜLLER, MAJEWSKI, POLANI). Die Ergebnisse sind z.T. je nach Färbemethode und verwendetem Farbstoff unterschiedlich. Bei Quinacrine-Mustard ist die Anreicherung und damit auch die Zahl der positiven Zellkerne besonders hoch (BARLOW, MAJEWSKI). Sie verändert sich mit dem Alter des Individuums. Statistisch gesicherte Zusammenhänge lassen sich jedoch noch nicht erkennen (MÜLLER, VOGELIN u.a.). Die prozentuale Verteilung bei Männern und Frauen ist jedoch bei frischen Proben so eindeutig, daß eine sichere Geschlechtsbestimmung immer möglich ist.

Untersuchungen von MÜLLER, BÜHLER u.a. ergaben, daß sich selbst in eingetrockneten Blutzellen noch nach längerer Zeit Fluoreszenzkörperchen nachweisen ließen und damit eine Geschlechtsdiagnose gestellt werden konnte. SCHWINGER berichtete von ähnlichen Ergebnissen auf der 50. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, eine sichere Methode zur Geschlechtsbestimmung an länger und unter verschiedenen Bedingungen gelagerten Blutproben und -spuren zu entwickeln und die Nachweisbarkeit des männlichen Geschlechts zeitlich abzugrenzen.

B Vorversuche zur Materialgewinnung, Aufarbeitung und Auswertung

Die bei den Vorversuchen zur Materialgewinnung hergestellten Blutausstriche wurden in 25 %-iger Essigsäure bis zur Zerstörung aller Erythrozyten fixiert und für 3 - 5 Minuten in Atebrin[®]-Lösung (0,5 %-ig) gefärbt. Es schloß sich eine Entfärbung über die doppelte Färbezeit an. Die Auswertung erfolgte im Auflicht mit einem UV-Mikroskop.

Da die Konzentration der weißen Blutkörperchen in den Ausstrichen besonders zur Erlernung der Methode zu gering war, wurde mit angereichertem Blut gearbeitet: Es kam Citratblut zur Anwendung, das bei 3.500 U/min 30 Minuten lang in der Venüle zentrifugiert wurde. Die zwischen Serum und roten Blutkörperchen befindliche milchige Grenzschicht enthielt angereichert weiße Blutkörperchen. Dieses angereicherte Material wurde nochmals bei gleicher Umdrehungszahl und Zeitdauer in selbstgezogenen Glasröhrchen von ca. 6 mm Durchmesser zentrifugiert. Aus der wiederum gebildeten Grenzschicht konnte mit einer Kapillare das Material für die Ausstriche entnommen werden. Hierdurch resultierten Ausstriche mit sehr hoher Konzentration an weißen Blutkörperchen.

Blutflecken auf Leinengewebe wurden ebenfalls mit nach dieser Methode angereichertem Blut hergestellt. Bei der Aufbereitung der eingetrockneten Blutspuren wurde versucht, nach der von UNDRITZ und HEGG ange-

gegebenen Methode vorzugehen, die das getrocknete Blut mit einem Skàlpell o. ä. von der Textilunterlage kratzen. Dieses Vorgehen führte nicht zum Ziel, da das Blut vom Gewebe aufgesaugt war. Der Stoff wurde deshalb mit einem Federmesser auf dem Objektträger in seine einzelnen Fasern zerlegt, so daß sich die Blutkörnchen herauslösten. Zum Härten der zelligen Blutbestandteile wurden die Blutschüppchen, wie von KEMPEN angegeben, mit Aceton bedeckt. Dadurch kam es aber während des Verdunstens meist wieder zu einer Verklumpung der Körnchen. Günstiger war, das eingetrocknete Blut schon vor dem Ablösen auf dem Textilgewebe mit Aceton zu benetzen. Mit Hilfe eines zweiten Objektträgers wurden die Blutkörperchen vorsichtig zerdrückt und das Material mit zellfreiem Serum resuspendiert, wobei ein kleiner Tropfen neben das Pulver gebracht, eine Spur Serum mit einer Nadel in das Material hereingezogen und schnell vermischt wurde. Die weitere Zerkleinerung der Bröckchen erfolgte mehr durch Drücken und Stechen als durch Rühren, da letzteres die Zerstörung von Zellen in stärkerem Umfang verursacht, als das andere Vorgehen. Mit einem kleinen Deckgläschen wurde dann der Tropfen ausgestrichen und das Präparat luftgetrocknet. Je schneller bei der Aufbereitung gearbeitet wird, und je dünner das Präparat ist, was schnellere Trocknung bedeutet, desto besser bleiben die weißen Blutkörperchen erhalten. Die im aufbereiteten Blut auch nach teilweiser Abschwemmung beim Fixier- und Färbevorgang enthaltenen Textilfasern führten dazu, daß die Präparatoberfläche uneben und damit die Pufferlösung unter dem Deckgläschen nicht gleichmäßig verteilt war, wobei manche Bezirke völlig trocken blieben. Da aber fehlende Pufferlösung, wie ein Zwischenversuch zeigte, ein erhebliches Absinken der Y-body-Werte zur Folge hatte, mußten möglichst faserfreie Präparate hergestellt werden.

Dazu wurde das Gewebe unter dem Operationsmikroskop bei 25-facher Vergrößerung mit einer feinen Nadel so zerlegt, daß sich nur sehr wenige Fäserchen von den einzelnen Garnsträngen ablösten, die schließlich noch mit einer Pinzette aussortiert werden konnten.

Versuche, mit geronnenem Blut angereicherte Präparate herzustellen, wobei zunächst das Koagulum bis zur Auflösung aufgeschüttelt und dann wie Frischblut zentrifugiert wurde, brachten zwar zunächst die beabsichtigte Zellkonzentration, führten aber bei der Auswertung zu einer relativ geringen Anzahl von fluoreszenz-positiven Zellkernen. Bis zu acht Tage alte, bei Zimmertemperatur gelagerte und nach diesem Verfahren aufbereitete Proben wiesen durchschnittlich nur 12 % F-bodies auf. Bei einer anschließenden zweiten Untersuchung nach weiteren acht Tagen zeigte sich zudem, daß durch das Aufschütteln die Hämolyse stark beschleunigt worden war und bei der Auswertung keine positiven Zellkerne gefunden wurden.

Aus diesen Gründen wurde versucht, aus geronnenem Blut verwertbare Blutaussstriche nach der üblichen Ausstrichmethode herzustellen. Diese wurden jedoch recht ungleichmäßig. Mit der Zwei-Objektträger-Methode, bei der ein Klumpen Koagulum zwischen den Gläsern breitgedrückt und dann der obere Objektträger seitwärts abgezogen wurde, kam zwar eine gleichmäßige Verteilung zustande, doch war das Präparat so dick, daß meist über eine Stunde in 25 %-iger Essigsäure fixiert werden mußte, um sämtliche Erythrozyten aufzulösen. Die Auflösung der Erythrozyten ist erforderlich, um eine beim Mikroskopieren störende Aufhellung des Hintergrundes zu vermeiden. Infolge der langen Fixierung konnten kaum mehr positive Kerne gefunden werden. Versuche mit frischen Blutaussstrichen, bei denen das gleiche Präparat jeweils zur

Halbte drei Minuten und über eine Stunde in Essigsäure fixiert wurde, zeigten, daß die Dauer der Säureeinwirkung von Einfluß auf die Zahl der fluoreszenz-positiven Kerne ist. Bei langer Einwirkung wurden nur noch sehr wenige Y-bodies gefunden. Ähnliches beobachtete KLINGER bei dem Nachweis des Sexchromatins.

Schließlich wurden die Blutausstriche so hergestellt, daß mit der Pinzette dem Reagenzglas ein kleiner Koagulumklumpen entnommen, zur Entfernung des anhaftenden Serums mit Filterpapier abgetupft und dann wie pinselnd über den Objektträger hin- und hergezogen wurde, ähnlich dem Vorgehen bei der Herstellung von Haarwurzelpräparaten (SCHWINGER u.a.). Mit zunehmendem Alter wird das Koagulum immer lockerer und feuchter, so daß die Zahl der am Objektträger haftenden Zellen geringer wird. Es empfiehlt sich dann, das Präparat nach dem Trocknen nochmals mit dem Koagulum zu überstreichen. Mit dieser Methode wurden sehr zellreiche Präparate erzielt.

Aus einem Blindversuch mit Blutausstrichen männlicher und weiblicher Probanden, der zur Überprüfung der Beherrschung der Untersuchungsmethode durch den Autor vorgenommen wurde, ergaben sich Erfahrungen bezüglich der Auswertung der auftretenden Fluoreszenzerscheinungen. Diese Erfahrungen lassen sich insbesondere an weiblichen, d. h. meist fluoreszenz-negativen Zellkernen sammeln, da nur bis zu 5 % positiver Kerne gefunden werden. Liegt die Zählung zunächst um einige Prozent höher, muß jeder für positiv gehaltene Kern genau betrachtet werden. Hierbei ist zu differenzieren, ob es sich bei dem vermutlichen Fluoreszenzkörper nicht nur um einen Artefakt durch Kernüberlappung, Chromatinverklumpung, Schmutzteilchen u. ä. handelt.

Da es mit zunehmendem Alter des Untersuchungsmaterials zwangsläufig zu einer Zunahme solcher Fehlerquellen kommt, wurde nach einer besseren Differenzierungsmöglichkeit bei der Auswertung gesucht. HEIMER, der von ähnlichen Schwierigkeiten bei der Nachweisbarkeit des Sexchromatinkörperchens an faulendem Zellmaterial berichtete, ging dazu über, bei der Auswertung nicht nur positive und negative Zellkerne zu unterscheiden. War eine sichere Zuordnung zu einer der beiden Gruppen nicht möglich, bezeichnete er solche Kerne als indifferent. Für jede Gruppe stellte er genaue Richtlinien auf, die für die folgenden Untersuchungen entsprechend abgeändert wurden und in dem Absatz "Auswertung" beschrieben werden.

C Endgültige Untersuchungsmethoden

1. Ansätze

Von sechs männlichen Probanden entnommenes Blut wurde nach Anfertigung eines Frischblutausstriches auf je drei Reagenzgläser verteilt, von denen eines verschlossen im Kühlschrank, eines verschlossen bei Zimmertemperatur und Lichtexposition gelagert wurde. Bei dem dritten Ansatz erfolgte eine Anreicherung der weißen Blutzellen wie oben beschrieben. Das angereicherte Material wurde auf gewaschenen Leinenstoff getropft und bei Licht- und Luftzutritt aufbewahrt. Für weitere Untersuchungen standen auch Blutflecken auf Stoff und Glas mit normalem, nicht angereichertem Blut zur Verfügung. Letztlich wurden auch Untersuchungen an länger im Kühlraum gelagerten Blutalkoholproben vorgenommen.

2. Aufbereitung und Fluorochromierung

Die Aufbereitung des Materials für die fluoreszenz-mikroskopische Untersuchung erfolgte nach den durch die Vorversuche entwickelten Methoden, wobei das auf Glas angetrocknete Blut in gleicher Weise behandelt wurde, wie das von Textilgewebe. Alle Blutaussstriche wurden auf gut entfetteten Objektträgern luftgetrocknet und in 25 %-igem Eisessig fixiert. Während bei Frischblutaussstrichen eine Fixierungsdauer von ca. drei Minuten vollauf genügte, war bei Ausstrichen aus älterem Blut bzw. aus aufbereiteten Blutspuren durch die zwangsläufig stärkere Präparatdicke eine etwas längere Fixierungszeit notwendig, um alle Erythrozyten zu zerstören. Die so fixierten Präparate wurden teils sofort fluorochromiert und mikroskopiert, teils erst nach einigen Tagen weiterbehandelt, ohne daß bei der Auswertung Unterschiede zu erkennen waren. Die Fluorochromierung erfolgte mit 0,5 %-iger Atebrin[®]-Lösung (Bayer), die im Kühlschrank mehrere Wochen haltbar ist (MAJEWSKI, POLANI). Der Färbevorgang dauerte drei - fünf Minuten. Danach erfolgte sechs - zehn Minuten lange Entfärbung in Leitungswasser, das gleich nach dem Einstellen der Präparate einmal erneuert wurde. An die Lufttrocknung schloß sich die Einbettung in Phosphatpuffer (pH 7) an, wozu die Ränder der Deckgläschen zum Schutz gegen Austrocknung mit Vaseline o. ä. bestrichen wurden.

3. Mikroskopie

Die Auswertung erfolgte im Zeiss-Forschungsmikroskop "Standard-Universal" bei Auflichtfluoreszenz (Erregungsfilter BG 3 (4 mm), Sperrfilter 50/44) mit Öl-immersionsobjektiv.

4. Auswertung

Bei den Präparaten aus älteren Blutspuren zeigte sich, daß die polymorphkernigen Leukozyten oft deformiert vorliegen bzw. kaum noch zu erkennen sind, so daß beim Auszählen nur die Lymphozyten berücksichtigt wurden. Aufbauend auf die Erfahrungen von HEIMER ist ein Zellkern nur dann als positiv zu werten, wenn er ein randständiges, nach Größe und Form typisches, intensiv angefärbtes Fluoreszenzkörperchen enthält. Diese Eigenschaften behält der F-body im wesentlichen auch beim Untergang des Kernes bei. Häufig kann aber eine blässere Anfärbbarkeit und eine verwaschene Konturierung beobachtet werden. Davon abzugrenzen sind randständige, fluoreszierende Chromatinschollen und -verklumpungen, wie sie während der Autolyse und Fäulnis in männlichen und weiblichen Zellkernen vorkommen. Im Bereich des F-body, der sich durch deutlich intensivere Färbung auszeichnen soll, muß der Zellkern frei von Überlappungen durch andere Kerne sein.

Als negativ zu bezeichnen ist ein Kern, wenn das Karyoplasma eine helle, granulierende bis mittelfein gekörnte oder feinnetzige Struktur aufweist und keinerlei stärker gefärbte Chromatinmasse enthält. Die Kernmembran sollte sich deutlich abzeichnen, ohne verdickt oder hyperchromatisch zu sein, wobei der Kern in allen seinen Teilen eingesehen werden muß.

Indifferent sind solche Kerne, die optisch blaß und leer erscheinen oder hyperchromatische, homogene Struktur aufweisen, nicht typische Fluoreszenzpunkte enthalten oder wenn diese nicht randständig sind.

Es wurden jeweils 100 oder 200 Kerne ausgezählt, wobei alle geschrumpften und zerstörten Kerne oder Kernreste nicht mitgezählt wurden.

D Untersuchungen (s. Tabelle S. 22)

1. Bei Zimmertemperatur gelagerte Blutproben
(Vers. Nr. 1 - 6)

Die Untersuchung erfolgte zunächst nach einer Woche, dann alle zwei Tage. Im Versuch liefen auch zwei Blutproben von weiblichen Probanden (Vers. Nr. 5, 6) mit um festzustellen, ob beim Fäulnisprozeß durch chemische Veränderungen im Zellkern Y-bodies vorgetäuscht werden, was zu einer falsch positiven männlichen Geschlechtsdiagnose führen könnte. Bei den weiblichen Proben wurden schon nach der ersten Woche keine als F-bodies zu wertende Fluoreszenzkörperchen mehr gefunden. Bei den männlichen Blutproben konnte bis zum 17. Tag eine sichere Geschlechtsdiagnose gestellt werden, in einem Fall bis zum 19. Tage. Nach Auflösung des Koagulums waren in Ausstrichen mit dem zerfallenen Blut keine F-bodies in den noch vorhandenen Zellkernen zu beobachten.

2. Im Kühlschrank gelagerte Blutproben
(Vers. Nr. 7 - 12, 27 - 36)

Die Proben wurden wöchentlich untersucht. Da nach sechs Wochen noch durchschnittlich 36 % F-bodies in den Blutausstrichen gezählt wurden, sollte an für forensische Zwecke bis zu zwei Jahren im Kühlraum aufbewahrten Blutalkoholproben die Nachweisbarkeit des Y-Chromosoms überprüft werden (Vers. Nr. 27 - 36). Sicher positive Geschlechtsdiagnosen waren bis zur 63. Woche möglich.

3. Eingetrocknete Blutflecken auf Leinengewebe

(Vers. Nr. 13 - 22)

Durch die Verwendung von angereichertem Blut konnte schon aus 40 mm^2 Stoff für die Auswertung ausreichendes Zellmaterial gewonnen werden. Nach acht Wochen war noch eine sichere Geschlechtsdiagnose durchführbar, wobei durchschnittlich noch 25 % F-bodies gefunden wurden. Untersuchungen an Blutflecken aus nicht angereichertem Blut (Vers. Nr. 19 - 22) zeigten, daß auch bei Blutspuren, wie sie in der forensischen Begutachtung anfallen, mit entsprechend größerer Materialmenge auswertbare Präparate hergestellt werden können.

4. Eingetrocknete Blutspuren auf Glas

(Vers. Nr. 23 - 26)

Im aufgearbeiteten Blut konnten bis zur 6. Woche positive Zellen nachgewiesen werden, danach war eine Geschlechtsdiagnose nicht mehr möglich.

E Versuchsergebnisse

Die Untersuchungen haben ergeben, daß mit Hilfe der Fluoreszenzmethode eine positive männliche Geschlechtsbestimmung an länger und unter verschiedenen Bedingungen gelagerten Blutproben und -spuren durch Nachweis der Fluoreszenzkörperchen an Lymphozyten möglich ist. Bei feuchten Blutproben, d.h. die in verschlossenen Gläsern bei Zimmertemperatur und im Kühlschrank aufbewahrt wurden, ist der Zeitpunkt, bis zu dem noch eine Geschlechtsdiagnose gestellt werden kann, offenbar vom hämolytischen Zerfall des Blutes bzw. des Koagulums abhängig. Alle Faktoren, die eine Beschleunigung der Hämolyse bewirken, wie höhere Temperatur, Aufschütteln des

Untersuchungsmaterials oder Bakterienbefall führen somit zu einer zeitlichen Verringerung der Möglichkeit zur Geschlechtsbestimmung. Die bei Raumtemperatur gelagerten Blutproben zeigten unterschiedlich starken Bakterienbefall, der bei der mikroskopischen Untersuchung abgeschätzt werden kann, da auch die Bakterien flurochromiert werden. Abhängig von der Stärke der bakteriellen Verunreinigung resultiert eine kürzere oder längere Nachweisbarkeit des F-body. Die Grenze der positiven Geschlechtsdiagnose lag zwischen dem 15. und 19. Tag. Nach der Auflösung des Koagulum waren trotz noch vorhandener Lymphozyten, die im Mikroskop aber "leer" erschienen, keine Fluoreszenzkörperchen mehr nachzuweisen.

Bei allen kühl gelagerten Proben bestand das Koagulum entsprechend länger, so daß bis zur 63. Woche noch eine Geschlechtsbestimmung möglich war.

An Blutspuren von Textilgewebe gelang noch nach acht Wochen eine sichere Geschlechtsdiagnose. Die hierbei festgestellten Werte lassen eine noch längere Nachweisbarkeit des Y-Chromosoms vermuten. Auffallend war demgegenüber, daß bei Blutspuren auf Glas nach sechs Wochen eine Geschlechtsdiagnose nicht mehr gestellt werden konnte. Es liegt die Vermutung nahe, daß die Ursache hierfür im Resuspensionsvorgang liegt, da die auf Textilien oder Glas angetrockneten Spuren sich beim Auflösungsvorgang im Serum unterschiedlich verhalten. Das Material von Spurenträgern aus Glas neigte zur Verklumpung. Bei gleicher Materialmenge und Korngröße war bei diesem eine intensivere Rotfärbung des resuspendierten Bluttröpfens als bei Spuren auf Textilien vorhanden, was auf eine stärkere Zellkonzentration bei ersterem Material schließen läßt. Hieraus resultiert eine Verlängerung des Resuspensionsvorgangs, die eine entsprechend stärkere Zer-

störung der Zellstrukturen bewirkt. Demnach scheint die Zeitabhängigkeit des männlichen Geschlechtsnachweises an eingetrockneten Blutspuren weniger von primären Veränderungen im Zellkern beeinflusst zu werden als von artefiziellen Strukturveränderungen durch den besonders für ältere Zellen stärker zerstörend wirkenden Resuspensionsvorgang.

Die aufbauend auf den Erfahrungen und Richtlinien von HEIMER für die Auswertung eingeführte Differenzierung der Zellkerne in positive, negative und indifferente bietet gegenüber der einfachen Unterteilung in positive und negative weitere diagnostische Möglichkeiten. Die Zahlenwerte für indifferente Zellkerne geben indirekt einen Bewertungsmaßstab für den Erhaltungszustand der Blutzellen, denn je mehr indifferente Zellen vorhanden sind, desto älter ist das Untersuchungsmaterial. Darüberhinaus ist es auch möglich, bei niedrigen F-body-Werten zu differenzieren, ob es sich z. B. bei geronnenem Blut um eine alte Blutprobe eines männlichen oder um frisches Blut eines weiblichen Individuums handelt. Im ersteren Fall ergibt sich eine sehr hohe Zahl indifferenter Zellen bei wenigen negativen und positiven, im letzteren, bei gleicher Anzahl positiver Zellkerne, eine hohe Zahl negativer Zellen mit wenig indifferenten. Bei Unterteilung in nur zwei Kategorien wäre die Geschlechtsdiagnose in derartigen Fällen nur durch zusätzliche Untersuchung des Sexchromatins möglich. Für forensische Zwecke sollte diese Kontrolle auf jeden Fall durchgeführt werden.

Diskussion

Die Untersuchung frischer Blutproben hat gezeigt, daß eine sichere Geschlechtsdiagnose in jedem Fall möglich ist. Die absoluten Zahlenwerte für positive

Zellen in Proben von männlichen Personen können allerdings in größeren Grenzen schwanken, wie auch aus den bisher veröffentlichten Arbeiten hervorgeht. Die Ursachen für die unterschiedlichen Ergebnisse selbst am gleichen Material sind in wechselnden äußeren Faktoren bei der Lagerung und Aufbereitung der Proben zu suchen. Daneben spielt auch das manuelle Geschick und die Erfahrung des Untersuchers eine wesentliche Rolle. Wenn auch an Blutproben und an Blutspuren durch verfeinerte Differenzierung Aussagen darüber möglich sind, ob es sich um frisches oder älteres Material handelt, läßt sich eine sichere zeitliche Relation zwischen der Anzahl der fluoreszenzpositiven Zellkerne und dem genauen Spurenalter aus den dargelegten Gründen nach den bisherigen Erfahrungen nicht ableiten.

G Zusammenfassung

Es wurden Methoden entwickelt, mit denen aus älteren, unter verschiedenen Bedingungen gelagerten Blutproben und -spuren verwertbare Blutaussstriche für die fluoreszenzmikroskopische Geschlechtsdiagnose hergestellt werden können. An insgesamt 36 Blutproben wurde nachgewiesen, daß eine positive Geschlechtsbestimmung an Material, das bei Zimmertemperatur gelagert war, bis zum 19. Tag und bei im Kühlschrank gelagertem bis zur 63. Woche möglich ist. Blutspuren von Textilgewebe ließen sich noch nach acht Wochen sicher bestimmen, während an Blutspuren von Glas nach der 6. Woche keine Geschlechtsdiagnose mehr gestellt werden konnte.

H Tabelle (Angaben in %)

Vers. Nr.	frischer Ausstrich	Tage										19	17	15	13	11	9	7	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2	1	8	7	6	5	4	3	2</
-----------	--------------------	------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-----

(+/-/0) = (positiv/negativ/indifferent)

(-/-/-) = Untersuchung nicht mehr möglich oder ausgefallen

I Literaturverzeichnis

- BARLOW, P., VOSA, C.G.: The Y-Chromosome in human spermatozoa. *Nature* (Lond.) 226, 961 (1970)
- BARR, M.L., BERTRAM, E.G.: A morphological distinction between neurons of male and female and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature* (Lond.) 163, 676 (1949)
- CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G.E., KUDYNOWSKI, I., MODEST, E.J., SIMONSSON, E., WAGH, U., ZECH, L.: Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp. Cell. Res.* 49, 219 (1968)
- CASPERSSON, T., ZECH, L., MODEST, E.J., FOLEY, G.E., WAGH, U., SIMONSSON, E.: DNA-binding fluorochromosomes for the study of the organization of the metaphase nucleus. *Exp. Cell. Res.* 58, 141 (1969)
- CASPERSSON, T., FARBER, S., FOLEY, G.E., KUDYNOWSKI, I., MODEST, E.J., SIMONSSON, E., WAGH, U., ZECH, L., JOHANSSON, C.: Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp. Cell. Res.* 60, 315 (1970)
- CASPERSSON, T., ZECH, L., JOHANSSON, C., MODEST, E.J.: Identification of human chromosomes by DNA-binding fluorescent agents. *Chromosoma* (Berl.) 30, 215 (1970)
- CASPERSSON, T., ZECH, L., JOHANSSON, D., LINDSTEIN, J. and HULTEN, M.: Fluorescent staining of heteropycnotic chromosome regions in human interphase nuclei. *Exp. Cell. Res.* 61, 472 (1970)
- CASPERSSON, T., ZECH, L. and JOHANSSON, C.: Analysis of the human metaphase chromosome set by aid of DNA-binding fluorescent agents. *Exp. Cell. Res.* 62, 490 (1970)
- DALLAPICCOLA, B.: Identification of the human sex chromosome complement in polymorphnuclear leukocytes: a new technique. *Y Lab. Clin. Med.* 78, 88 (1971)
- DAVIDSON, W.M., SMITH, D.R.: A morphological sex difference in the polymorphnuclear neutrophil leucocytes. *Brit. Med. J.* 1954/2, 6
- ENGEL, E., CULBERTSON, J.C., MAHLEY, R.W., FENICHEL, G.M.: Barr body studies from the hair. *Lancet* 11, 789 (1970)
- GEORGE, K.P.: Cytochemical differentiation along human chromosomes. *Nature* (Lond.) 226, 80 (1970)

- HEGG, P. und UNDRITZ, E.: Die morphologische Untersuchung eingetrockneter Blutflecken und ihre forensische Bedeutung. Wien. med. Wschr. 112, 294 (1962)
- HEIMER, R.: Möglichkeiten und Methoden der zellkern-morphologischen Geschlechtererkennung an Körpergeweben und Sekret-Spuren. Schmidt-Römhild, Lübeck (1970)
- HOLZER, F.-J., MARBERGER, E.: Zur mikroskopischen Geschlechtsbestimmung an Leichenteilen. Dtsch. Ztschr. f. ger. Medizin 46, 242 (1957)
- KEMPEN, P.: Untersuchungen zur Blutalters- und Geschlechtsbestimmung an Blutschüppchen. Diss. Bonn (1961)
- KIM, A., BIER, L., MAJEWSKI, F., PFEIFFER, R.A.: Fluorochromierung menschlicher Chromosomen mit Atebrin-Essigsäure. Humangenetik 12, 257 (1971)
- KLINGER, H.P.: Morphological characteristics of the sex chromatin. In Moore, K.L.: The sex chromatin. Chapt. 4, 76, Saunders, Philad., Lond. 1966
- MAJEWSKI, F., BIER, L., PFEIFFER, R.A.: Fluoreszenz-mikroskopischer Nachweis des menschlichen Y-Chromosoms in Interphasekernen durch Acridinderivate ("Atebrin", "Acranil"). Klin. Wschr. 49, 814 (1971)
- MENDE, S., ALONSO, A.: Bestimmung des männlichen Kerngeschlechts in menschlichen Blutzellen. Dtsch. med. Wschr. 26, 1122 (1971)
- MÜLLER, H., BÜHLER, E.M., VOGELIN, M.G., STALDER, G.R.: Eine neue Methode der Geschlechtsbestimmung in Leukozyten aus eingetrockneten Blutflecken. Schweiz. med. Wschr. 101, 1171 (1971)
- MÜLLER, H.J., VOGELIN, M.G., BÜHLER, E.M., STALDER, G.R.: Erfahrungen mit der fluoreszenzmikroskopischen Erfassung des menschlichen Y-Chromosoms in Interphasekernen verschiedener Gewebe. Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. (im Druck)
- PEARSON, P.L., BOBROW, M., VOSA, C.G.: Technique for identifying Y-chromosomes in human interphase nuclei. Nature (Lond.) 226, 78 (1970)
- PEARSON, P.L., BOBROW, M., VOSA, C.G., BARLOW, P.W.: Quinacrine fluorescence in mammalian chromosomes. Nature (Lond.) 231, 326 (1971)
- POLANI, P.E., MUTTON, D.E.: Y-Fluorescence of interphase nuclei, especially circulating lymphocytes. Brit. Med. J. 1971/1, 138

- RADAM, G., STRAUCH, H.: Lumineszenzmikroskopischer Nachweis des Y-Chromosoms in Knochenmarkszellen - eine neue Methode zur Geschlechtserkennung an Leichenmaterial. Kriminalistik und forensische Wissenschaften, 6, 149 (1971)
- SCHLEYER, F.: Über Beziehungen zwischen postmortalen Leukozytenvitalität und Leichenalter. Blut, Ztschr. f. Blutforschung, 6, 147 (1960)
- SCHMID, W.: Sex chromatin in hair roots. Cytogenetics 6, 342 (1967)
- SCHWINGER, E., RAKEBRAND, E., MÜLLER, H.F., BÜHLER, E.M., TETTENBORN, U.: Y-body in hair roots. Humangenetik 12, 79 (1971)
- SCHWINGER, E.: Geschlechtsbestimmungen aus Blutspuren. Ztschr. f. Rechtsmed., 70, 157 (1972)
- UNDRITZ, E., HEGG, P.: Die morphologisch-hämatologische und cytologische Untersuchung eingetrockneter Blutflecken. Schweiz. med. Wschr. 41, 1088 (1959)
- UNDRITZ, E., HEGG, P.: Die morphologische Untersuchung eingetrockneter Blutflecken. Schweiz. med. Wschr. 43, 1223 (1960)
- ZECH, L.: Investigation of metaphase chromosome with DNA-binding fluorochromes. Exp. Cell. Res. 58, 463 (1969)

Lebenslauf

Am 7. Mai 1944 wurde ich, Axel Krüger, als zweites Kind des Studienassessors Otto Krüger und seiner Frau Christa, geb. Keilberg, in Meerane in Sachsen geboren. 1947 ließ sich die Familie in Ölsburg bei Peine in Niedersachsen nieder. Hier ging ich von Ostern 1950 bis Herbst 1953 in die Volksschule und beendete nach einem Umzug das vierte Volksschuljahr in Peine. Von 1954 - 1963 besuchte ich das Ratsgymnasium in Peine, wo ich am 14. Februar 1963 die Reifeprüfung bestand. Im Sommersemester 1963 immatrikulierte ich mich als Student der Zahnmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, wo ich am 5. Mai 1966 die zahnärztliche Vorprüfung ablegte. Am 11. Februar 1969 beendete ich mit der zahnärztlichen Prüfung mein Studium. Vom Juni - September 1969 zog mich die Bundeswehr zu einer Wehrübung als Stabsarzt ein. Vom Oktober 1969 - Dezember 1971 war ich in Bayreuth als Assistent in einer zahnärztlichen Praxis tätig. Im Frühjahr 1972 führte ich meine Untersuchungen für die Dissertationsarbeit zu Ende.

Seit dem 27. April 1972 bin ich als Zahnarzt in eigener Praxis in Nürnberg tätig.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990